

⑩ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭59—47202

⑬ Int. Cl.³

C 08 B 37/16

// A 61 K 9/00

31/715

識別記号

庁内整理番号

7133—4C

7057—4C

7169—4C

⑭ 公開 昭和59年(1984) 3月16日

発明の数 2

審査請求 未請求

(全 10 頁)

⑮ 補酵素 Q₁₀ のメチル化-β-シクロデキストリン包接体及びその製造方法

⑯ 特 願 昭57—157912

⑰ 出 願 昭57(1982) 9月10日

⑱ 発 明 者 飯島昌夫
東京都杉並区桃井 1—13—3

⑲ 発 明 者 武藤泰章
川口市南前川 2—12—8

⑳ 発 明 者 中沢修一
戸田市中町 2—14—10

㉑ 発 明 者 青塚知士
東京都練馬区旭町 1—29—16

㉒ 発 明 者 栗原昭一
東京都江東区東陽 5—17—9

㉓ 発 明 者 柳田知良
鎌ヶ谷市道野辺956

㉔ 出 願 人 ゼリア新薬工業株式会社
東京都中央区日本橋小舟町10番
11号

㉕ 代 理 人 弁理士 山田恒光 外 1 名

明 細 書

1. 発明の名称

補酵素 Q₁₀ のメチル化-β-シクロデキストリン包接体及びその製造方法

2. 特許請求の範囲

- 1) 補酵素 Q₁₀ のヘプタキス (2,6-ジ-0-メチル)-β-シクロデキストリン包接体。
- 2) 補酵素 Q₁₀ をヘプタキス (2,6-ジ-0-メチル)-β-シクロデキストリンの水溶液に超音波を用いて分散後、攪拌溶解せしめることを特徴する補酵素 Q₁₀ のヘプタキス (2,6-ジ-0-メチル)-β-シクロデキストリン包接体の製造方法。
- 3) 水溶化した特許請求の範囲第1)項記載の包接体。
- 4) 凍結乾燥した特許請求の範囲第1)項記載の包接体。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、補酵素 Q₁₀ (以下、C。Q₁₀ と略す) のヘプタキス (2,6-ジ-0-メチル)

-β-シクロデキストリン (以下、DM-β-CyD と略す) 包接体及びその製造方法並びに C。Q₁₀ の従来知られている薬効薬理作用の増強又は新たな薬効薬理作用の発現に関するものである。

C。Q₁₀ は、細胞内ミトコンドリアにおける酸化のりん酸化に関与し、細胞呼吸を賦活し、それと共役的に ATP の産生を高め、生体各組織の活性化に重要な役割を果していることが確認されている。

この C。Q₁₀ は、現在医薬品として経口投与の形で用いられ、人間等の動物の体内に吸収された場合、心筋の活動を活発にするため、狭心症の治療等を目的とした循環系改善剤として実用化されている。しかしながら、實際上、臨床的には、『基礎治療施行中の軽度及び中程度のうっ血性心不全時の浮腫、肺うっ血、肝腫脹及び狭心症状』と比較的初期の段階で尚且つ軽度の疾患に用いられているのが現状である。このことは、C。Q₁₀ が水に不溶性であるため、消

化管からの吸収が極めて悪く、治療上有効な血中濃度に達しないことに起因する。事実、健康男子3名にC。Q₁₀結晶を各々300mg宛経口投与した際の血中濃度は投与2時間後で、3.4μg/mlの最高値に到達するに過ぎない〔応用薬理6(4)、695～706(1982)〕。このように、臨床用量(1回10mg、1日30mg)に比し、はるかに大量投与しているにも拘らず、最高血中濃度が低く、また最高血中濃度に到達する時間が遅いことは、うっ血性心不全という緊急な疾患の場合、極めて不都合なことである。また、C。Q₁₀を液剤として用いる場合、或る種の界面活性剤によりC。Q₁₀は可溶化されるが、界面活性剤は生体膜に損傷を与えるため、副作用が現われ、やはり不都合である。

本発明は、水に不溶性のC。Q₁₀をDM-β-CyDで包接して可溶化することにより、従来のC。Q₁₀の上述の問題点を解決したものである。C。Q₁₀を、DM-β-CyDで包接、可溶化して注射剤や経口用剤の形にして投与し

- 3 -

が、その可溶化効果については、期待し得る治療濃度まで達していない。

本発明は、以上の実情に鑑みてなしたもので、C。Q₁₀をDM-β-CyDで包接、可溶化した場合、β-シクロデキストリンのそれに比較して数10倍以上も可溶性が増大し、注射剤として、その治療効果が期待できることを発見した。更に、このC。Q₁₀包接体を液剤或いは固形製剤として経口投与した場合、その吸収率が飛躍的に上昇し、従ってC。Q₁₀のバイオアベイラビリティが高まり、治療に有利に使用できることが分った。

さて、C。Q₁₀が、DM-β-CyDにより包接されていることは、示差走査熱量(DSC)の測定から明白である。

即ち、後述の実施例1と同様にして製造したC。Q₁₀のDM-β-CyD包接体の水溶液を、実施例2と同様にして凍結乾燥して得た粉末(C。Q₁₀含量1.75%)は、第1図に示すように、161°に発熱ピークを有し(不可逆的で

- 5 -

た場合、従来のC。Q₁₀製剤に比し、最高血中濃度の発現は当然早くなり、また最高血中濃度は当然高くなることが考えられる。更に、界面活性剤添加によって生ずる副作用を避けることができる。

医薬品として用いられるC。Q₁₀は、その製造方法の観点から、極めて高価であり、その吸収率の改善或いは注射剤等の投与経路の選択により、その投与量を少なくすることは、重要な経済問題である。

このような観点から、吸収率の改善を試みたC。Q₁₀製剤が公開されている(特開昭54-92616、特開昭57-75916)。しかし、これらの技術では、使用上の制限があったりして、吸収の飛躍的な増大が見られず、従って十分に満足できるものではない。

一方、不溶性化合物の可溶化法の一つとして、シクロデキストリンによる包接化が提案されており、又、キノン類の包接化についても既に知られている〔Chem. Ber. 92, 378 (1957)〕

- 4 -

ある)、C。Q₁₀とDM-β-CyDとの混合物(C。Q₁₀含量1.69%)及び、DM-β-CyDには、第2図及び第3図に示すようにそれがないことから、前記発熱ピークは包接体特有のものであり、包接されていたC。Q₁₀が解離した結果、エネルギーを放出したものと解釈される。

近年、細胞レベルの実験において、ミトコンドリア機能に対して多大の関心が払われ、中でもそのエネルギー産生に及ぼすエンドトキシンの抑制作用が注目されており、エンドトキシンの直接作用によるものか、或いはショックに伴う低酸素症によるものかは十分には解明されていない。

これらの抑制作用に対するC。Q₁₀の予防効果又は賦活作用は、従来の水に不溶性のC。Q₁₀では、実験系を確立することが困難なため、確認できなかった。本発明によりC。Q₁₀をDM-β-CyDにより包接、水溶化することに成功したため、細胞レベルでの実験系を確立

- 6 -

し、C₆₀Q₁₀のDM-β-CyD包接体水溶液による細胞賦活作用を確認した。この基礎実験結果より、従来考えられなかった新たな治療効果の発現、例えば、脳代謝賦活作用、眼精疲労の改善効果、肝機能の改善効果などが、本発明による注射剤、点眼剤又は経口用剤の投与により期待できる。このように、本発明は、治療に有効なC₆₀Q₁₀の注射剤、経口用液剤及び固形製剤の提供を目的とするものである。

本発明によると、C₆₀Q₁₀は、以下のようにして包接、水溶化することができる。

即ち、DM-β-CyDを水に溶解し、遮光条件下で、この溶液にC₆₀Q₁₀を少量ずつ加えながら、超音波で分散させた後、攪拌して溶解させる。この溶解操作は室温でも、又、加温条件下、例えば30～40℃でも行うことができる。攪拌に要する時間は、2～24時間であるが、好ましくは、4時間がよい。攪拌終了後の溶液は、メンブランフィルター（ポアサイズ 0.22 μm）で濾過し、C₆₀Q₁₀のDM-β-CyD包接体

- 7 -

CyD包接体の粉末を経口投与後7日間の死亡例を観察し、死亡数からLD₅₀を求めることにより試験した。

その結果、本発明のC₆₀Q₁₀のDM-β-CyD包接体は、10 g/kgという大量投与でも死亡するものはなく、非常に安全性の高いことが判明した。

本発明の方法により製造されたC₆₀Q₁₀のDM-β-CyD包接体の水溶液は、光及び熱に対して安定である。

以上述べたように、本発明は、水に不溶性のC₆₀Q₁₀をDM-β-CyDにより包接、水溶化したものであり、その製造法は画期的であり、工業的製造法として優れている。更に、このC₆₀Q₁₀のDM-β-CyD包接体は、水に可溶性粉末であるために、投与方法も多様となり適用範囲が広がる。

次に、本発明を、以下の実験例及び実施例により説明する。

実験例 1

- 9 -

の水溶液を得る。このようにして製造されたC₆₀Q₁₀のDM-β-CyD包接体の水溶液は、水を加えて有効濃度まで薄め、医薬製剤に処方することができる。また、この包接体水溶液を凍結乾燥して、粉末とし、保存することも可能である。この粉末を用時水に溶解し、注射剤として使用することも出来るし、又、内服液としてもよい。この凍結乾燥粉末を経口投与した時のC₆₀Q₁₀の吸収率（血中濃度）は、C₆₀Q₁₀単味のそれと比較して、飛躍的に上昇した。

医薬用製剤としては、例えば、注射剤、内服液剤、粉剤、細粒剤及び顆粒剤等があげられる。製剤に際しては、通常の医薬用の賦形剤、希釈剤、安定剤、又所望のpH調整剤、浸透圧調整剤を添加することができる。

C₆₀Q₁₀のDM-β-CyD包接体の急性毒性試験

急性毒性は、体重20g前後のICR/JCL（日本クレア）系マウス6匹を1群として、実施例2により製造したC₆₀Q₁₀のDM-β-

- 8 -

DM-β-CyD水溶液に対するC₆₀Q₁₀の溶解度を表1に示した。5%、10%及び15%の各DM-β-CyD水溶液10mlに夫々C₆₀Q₁₀30mgを少量ずつ加えながら超音波で分散させた後、遮光して22℃の水浴中で4時間攪拌し、メンブランフィルター（ポアサイズ 0.22 μm）にて濾過し、濾液について波長275nm付近における吸収の極大波長で吸光度を測定して定量を行う。

表1 C₆₀Q₁₀のDM-β-CyDに対する溶解度（g/100ml, 22℃）

溶 解 液	C ₆₀ Q ₁₀ の溶解度
水（対照）	0
5%DM-β-CyD水溶液	0.072
10% "	0.145
15% "	0.209

実施例 1

DM-β-CyD 100gを蒸留水1lに溶解し、C₆₀Q₁₀ 1gを少量ずつ加えながら、超音波で分散させた後、遮光して22℃の水浴中で4時間攪拌して溶解し、メンブランフィルター（ポア

- 10 -

サイズ $0.22 \mu m$) にて濾過し、 0.1% の $C. Q_{11}$ の $DM-\beta-CyD$ 包接体の水溶液を得る。

実施例 2

実施例 1 で得た包接体の水溶液 (約 $1 ml$) を凍結乾燥し、 $C. Q_{11}$ の $DM-\beta-CyD$ 包接体の粉末約 $100g$ を得る。

実施例 3

実施例 1 で得た包接体水溶液を滅菌後、無菌的に $10ml$ づつバイアル瓶に定量分注し、凍結乾燥する ($10mg C. Q_{11} / バイアル$)。バイアル瓶内は窒素置換し密栓保存する。

実施例 4

実施例 1 で得た包接体水溶液 $100ml$ に塩化ナトリウム $0.66g$ を加えて攪拌して溶解する。この溶液を濾過、滅菌し、 0.1% 包接体の注射液を得る。

実施例 5

実施例 3 で得た包接体凍結乾燥末封入バイアル瓶中に、注射用食塩水 $10ml$ を注入、溶解後、注射用に使用する。

実施例 6

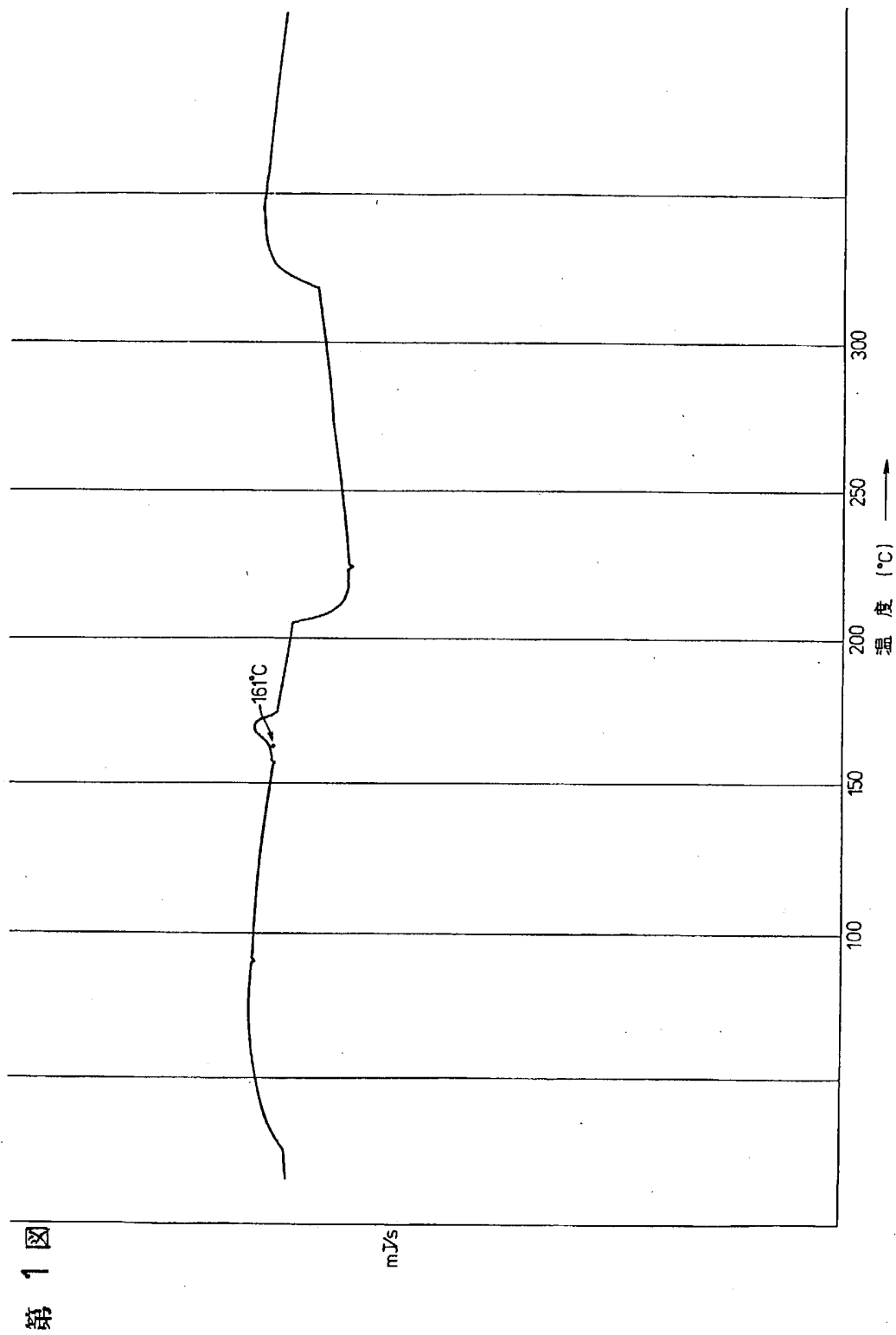
実施例 2 で得た包接体の粉末 50 部に、乳糖 48 部、ステアリン酸マグネシウム 2 部を均一に混合して散剤とする。或いは、通常の乾式造粒法によって細粒状とし、篩別して、細粒剤とする。

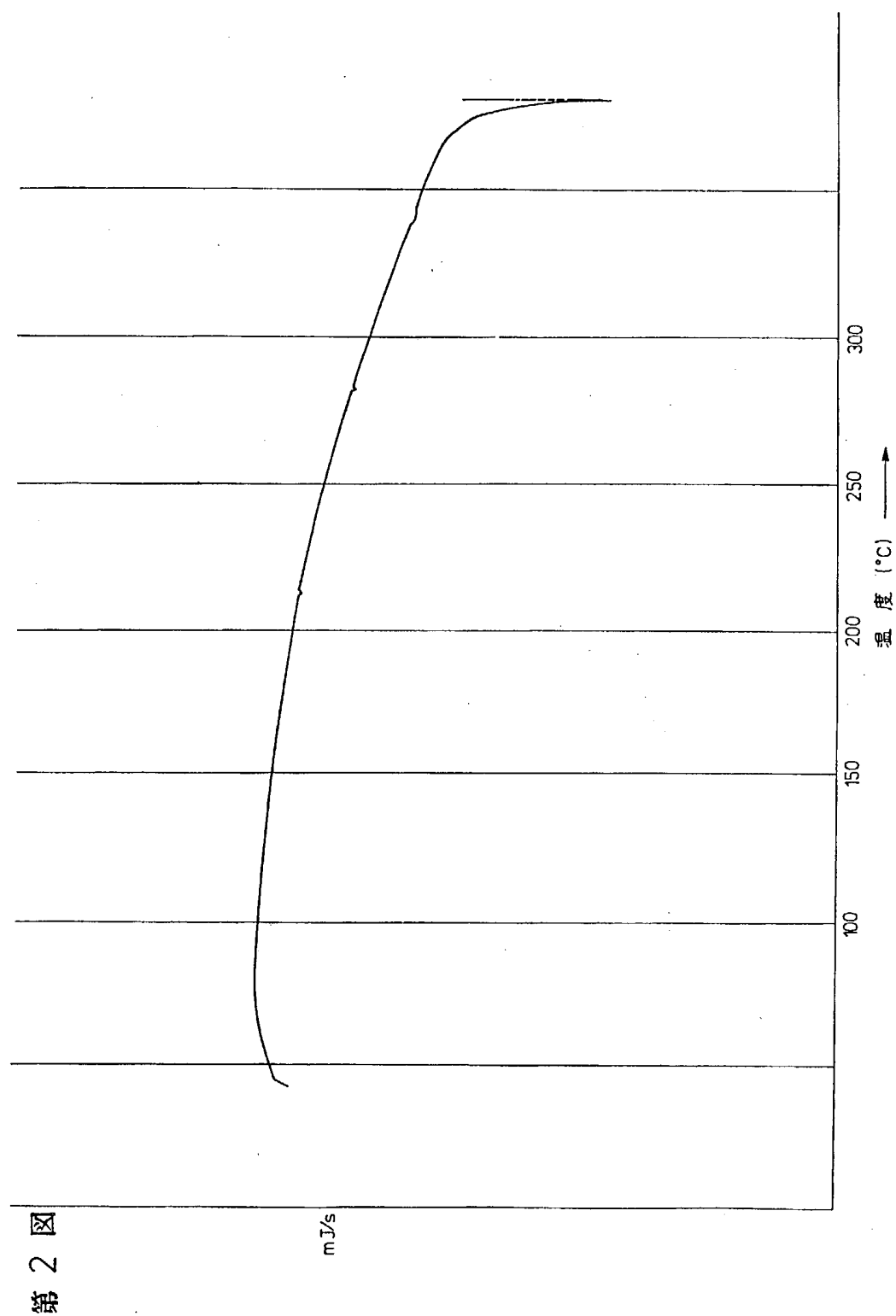
実施例 7

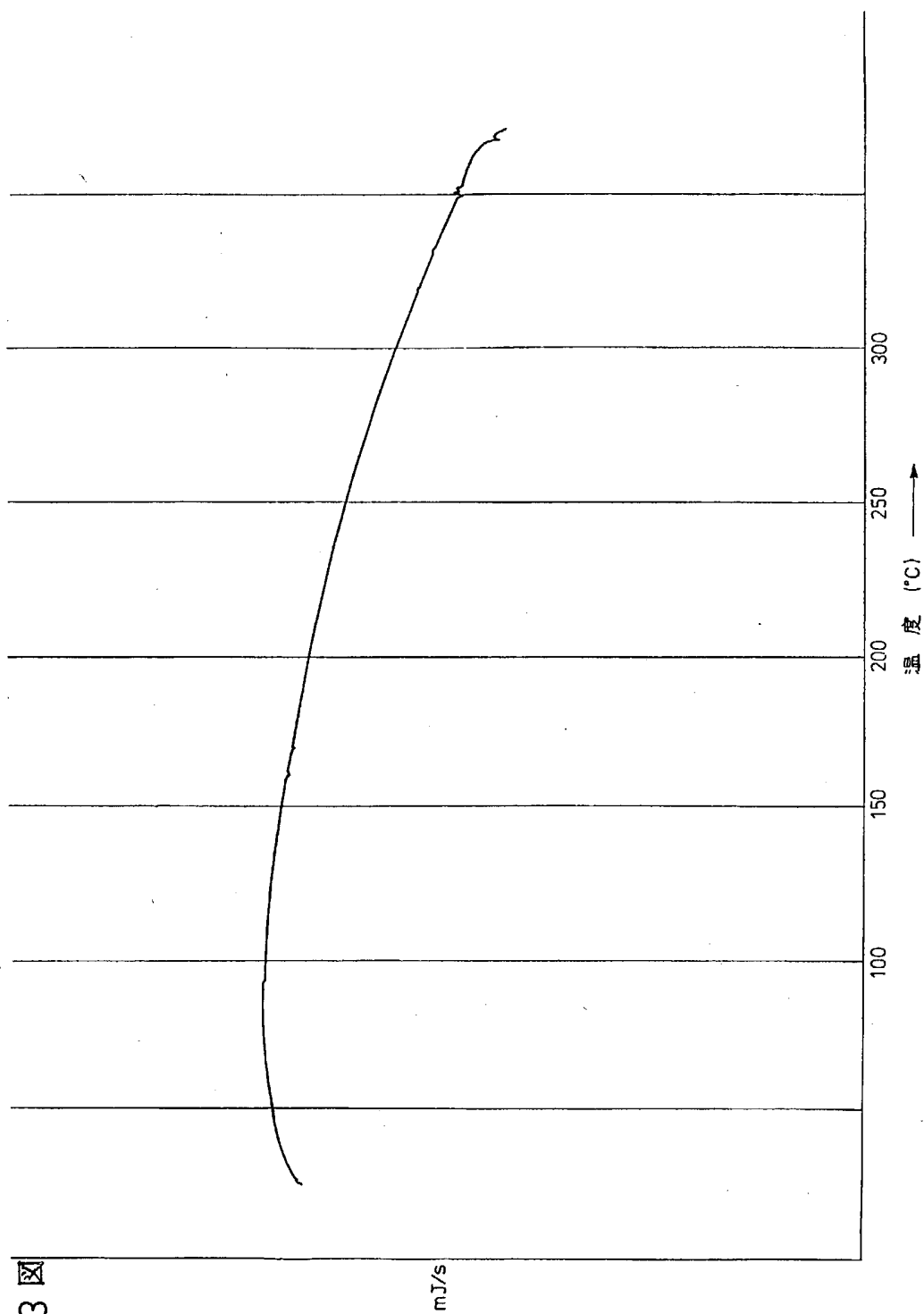
実施例 2 で得た包接体の粉末 50 部に、澱粉 15 部、乳糖 12 部、結晶セルローズ 20 とメチルセルローズ 3 部を均一に混合して捏和後、破砕造粒し、乾燥、篩別して顆粒剤とする。

4. 図面の簡単な説明

第 1 図は本発明の $C. Q_{11}$ の $DM-\beta-CyD$ 包接体の示差走査熱量の測定結果を示す図、第 2 図は $C. Q_{11}$ と $DM-\beta-CyD$ との混合物の場合、第 3 図は $DM-\beta-CyD$ の場合における夫々の示差走査熱量の測定結果を示す図である。







第 3 図

手続補正書

昭和57年 補 15日

特許庁長官 若 杉 和 夫 殿

1. 事件の表示

昭和57年 特 許 願 第157912号

2. 発明の名称

補酵素Q₁₀のメチル化・β・シクロデキストリン包接体及びその製造方法

3. 補正をする者

特許出願人

東京都中央区日本橋小舟町10番11号
ゼリア新薬工業株式会社

4. 代理人

東京都千代田区内神田三丁目5番3号

矢萩第二ビル

(6223)井理士 山 田 恒 光

(外1名)

5. 補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄及び図面の簡単な説明の欄、図面

(1)

表 1

試 料	吸熱点	発熱点
本発明のC ₁₀ のDM-β-CyD包接体	—	151℃
C ₁₀	48℃	—
C ₁₀ とDM-β-CyDの混合物	48℃	—
DM-β-CyD	—	—

上記から明らかなように、C₁₀は48℃に融解に基づく吸熱点を有し、またC₁₀とDM-β-CyDの混合物でも48℃にC₁₀の吸熱点が認められるのに対し、本発明のC₁₀のDM-β-CyD包接体ではその吸熱点が消失しており、このことからC₁₀とDM-β-CyDの相互作用即ち包接体形成が認められる。」

と補正する。

(2) 第10頁第2行及び第10行における

「表1」

を

「表2」

と夫々補正する。

(3)

6. 補正の内容

(1) 明細書の発明の詳細な説明の欄の補正

(i) 第5頁第19行～第6頁第7行における

「(C₁₀、含量1.75%)は、第1図に....
ものと解釈される。」

を

「(C₁₀、含量1.96%)は、第1図に示すように、151℃に発熱点を有し(不可逆的である。)、これに対してC₁₀、単独の場合、及びDM-β-CyDの凍結乾燥品にC₁₀を加え乳鉢中で軽く混合した場合は、夫々第2図及び第3図に示すように48℃に吸熱点を有し、また参考例として示したDM-β-CyD自体は第4図に示すように発熱点も吸熱点も有していない。これらをまとめると次の表1のようになる。」

(2)

(ii) 明細書の図面の簡単な説明の欄の補正

第12頁第14行～第15行における

「第2図は....第3図は」

を

「第2図はC₁₀、単独の場合、第3図はC₁₀とDM-β-CyDとの混合物の場合、第4図は」

と補正する。

(iii) 図面の補正

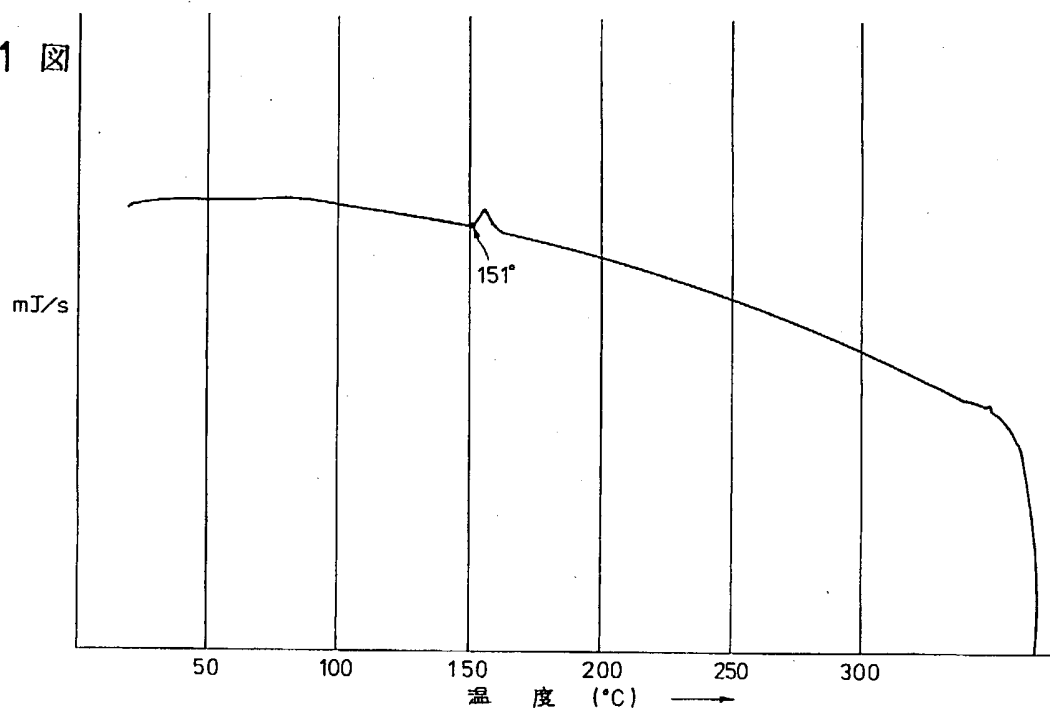
第1図、第2図、第3図を夫々添付図面の如く補正し、新たに添付第4図を追加する。

7. 添付書類の目録

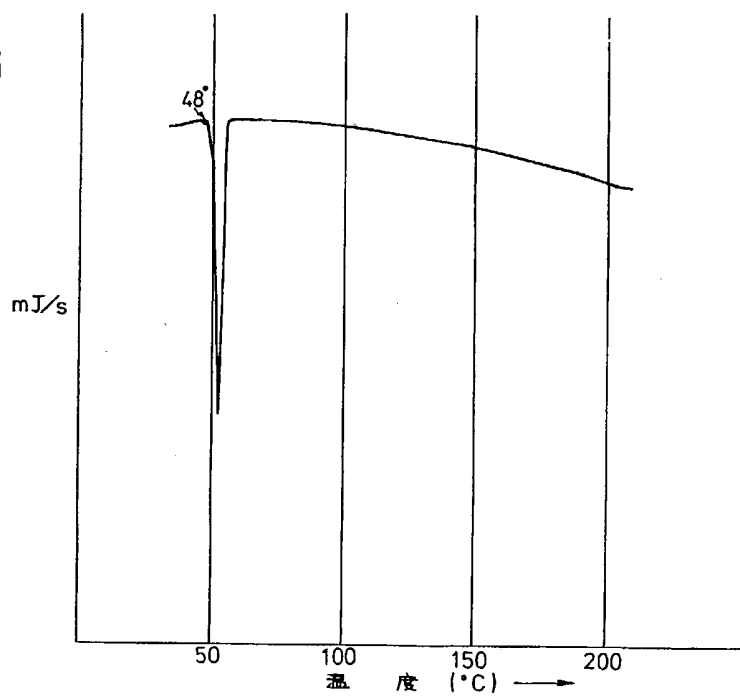
(1) 図 面 1 通

(4)

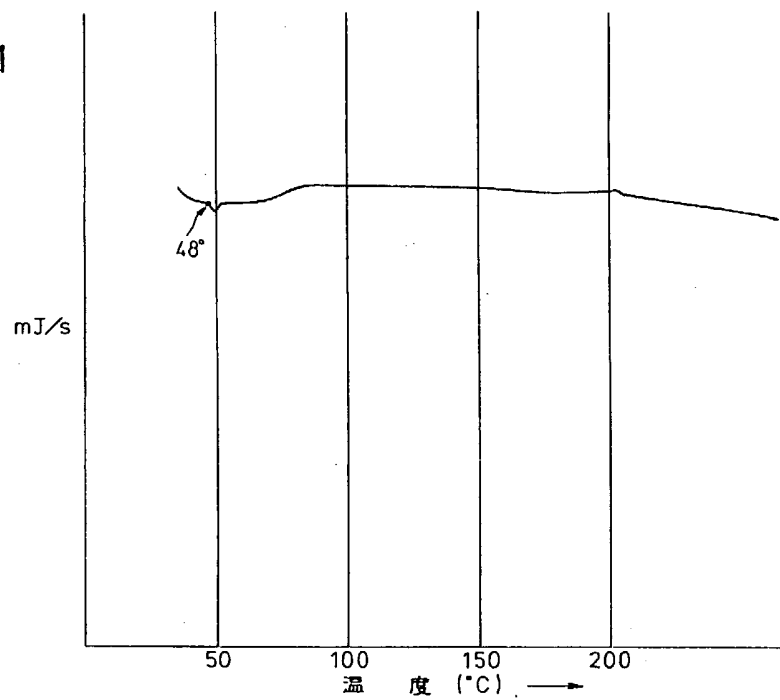
第 1 図



第 2 図



第 3 図



第 4 図

